



별첨 사본은 아래 출원의 원본과 동일함을 증명함.

This is to certify that the following application annexed hereto
is a true copy from the records of the Korean Intellectual
Property Office.

출원 번호 : 10-2003-0051841
Application Number

출원 년 월 일 : 2003년 07월 26일
Date of Application JUL 26, 2003

출원인 : 학교법인 포항공과대학교
Applicant(s) POSTECH FOUNDATION



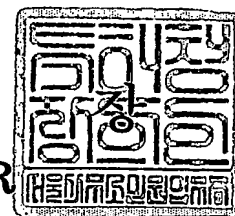
2004 년 03 월 25 일

특 허 청

COMMISSIONER

PRIORITY
DOCUMENT

SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)



【서지사항】

【서류명】	특허출원서
【권리구분】	특허
【수신처】	특허청장
【참조번호】	0012
【제출일자】	2003.07.26
【국제특허분류】	C07F
【발명의 명칭】	쿠커비투릴 유도체가 응집되어 형성된 나노 입자, 그 나노 입자에 약물이 담지된 약제학적 조성물, 및 이들의 제조방법
【발명의 영문명칭】	Nano-particles comprising curcubituril derivatives, pharmaceutical composition containing the same, and process for the preparation thereof
【출원인】	
【명칭】	학교법인 포항공과대학교
【출원인코드】	2-1999-900096-8
【대리인】	
【성명】	이영필
【대리인코드】	9-1998-000334-6
【포괄위임등록번호】	1999-050323-2
【대리인】	
【성명】	이해영
【대리인코드】	9-1999-000227-4
【포괄위임등록번호】	2000-006267-7
【발명자】	
【성명의 국문표기】	김기문
【성명의 영문표기】	KIM, Ki Moon
【주민등록번호】	540629-1018714
【우편번호】	790-330
【주소】	경상북도 포항시 남구 효자동 산31번지 포항공과대학교 화학과
【국적】	KR
【발명자】	
【성명의 국문표기】	전상용
【성명의 영문표기】	JON, Sang Yong
【주민등록번호】	710330-1918614

【우편번호】	790-330
【주소】	경상북도 포항시 남구 효자동 산31번지 포항공과대학교 화학과
【국적】	KR
【발명자】	
【성명의 국문표기】	전영진
【성명의 영문표기】	JEON, Young Jin
【주민등록번호】	720324-1657013
【우편번호】	790-330
【주소】	경상북도 포항시 남구 효자동 산31번지 포항공과대학교 화학과
【국적】	KR
【발명자】	
【성명의 국문표기】	오동현
【성명의 영문표기】	OH, Dong Hyun
【주민등록번호】	740123-1400915
【우편번호】	790-330
【주소】	경상북도 포항시 남구 효자동 산31번지 포항공과대학교 화학과
【국적】	KR
【발명자】	
【성명의 국문표기】	셀바팔람 나라야난
【성명의 영문표기】	SELVAPALAM, Narayanan
【주소】	경상북도 포항시 남구 효장동 산31번지 포항공과대학교 화학과
【국적】	IN
【심사청구】	청구
【취지】	특허법 제42조의 규정에 의한 출원, 특허법 제60조의 규정에 의한 출원심사를 청구합니다. 대리인 이영필 (인) 대리인 이해영 (인)
【수수료】	
【기본출원료】	20 면 29,000 원
【가산출원료】	6 면 6,000 원
【우선권주장료】	0 건 0 원
【심사청구료】	12 항 493,000 원

10-00000051841

출력 일자: 2004/3/26

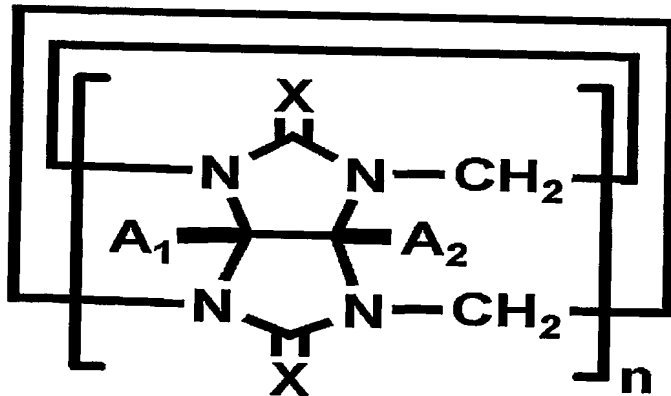
【합계】	528,000 원
【감면사유】	학교
【감면후 수수료】	264,000 원
【첨부서류】	1. 요약서·명세서(도면)_1통

【요약서】

【요약】

본 발명은 하기 화학식 1의 쿠커비투릴 유도체가 응집되어 형성된 직경 1 내지 1000nm 크기의 나노 입자, 그 나노 입자에 약리활성물질이 담지된 약제학적 조성물, 및 그들의 제조방법을 제공한다:

[화학식 1]



상기 화학식 1에서, X, A₁, A₂ 및, n은 명세서에서 기재된 바와 같다.

【대표도】

도 1

【명세서】

【발명의 명칭】

쿠커비투릴 유도체가 응집되어 형성된 나노 입자, 그 나노 입자에 약물이 담지된 약제학적 조성물, 및 이들의 제조방법{Nano-particles comprising curcubituril derivatives, pharmaceutical composition containing the same, and process for the preparation thereof}

【도면의 간단한 설명】

도 1은 (옥탄티오프로필옥시)12쿠커비투릴을 이용하여 본 발명의 방법에 따라 제조한 나노입자를 주사전자현미경으로 촬영한 사진이다.

【발명의 상세한 설명】

【발명의 목적】

【발명이 속하는 기술분야 및 그 분야의 종래기술】

2> 본 발명은 쿠커비투릴 유도체를 포함하는 나노 입자에 관한 것으로, 보다 상세하게는 쿠커비투릴이 응집되어 형성된 나노 입자, 그 나노 입자를 포함하는 약제학적 조성물, 및 그들의 제조방법에 관한 것이다.

3> 21세기를 맞이하여 게놈 프로젝트의 완성에 따라 유전자 해독을 통해 다양한 질병에 대한 진단과 예방에 대한 연구가 활발히 이루어지고 있다. 이에 발맞추어 신약의 개발과 이를 위한 약물전달시스템의 개발은 바이오 산업에서 가장 활발히 연구되어지고 있는 분야이다. 신약물질의 개발은 고부가 가치산업임에도 불구하고, 큰 위험부담과 막대한 경제적 뒷받침이 필요로 하며, 실제로 개발부터 산업화에 이르기까지 까다로운 임상절차를 포함하면 오랜 시간을 투자해야 하는 산업이다. 이에 반해 약물전달시스템의 개발은 새로운 신약개발에 필요한 시간과

비용에 비해 약 1/3이 단축되고 성공 확률도 매우 높다. 많은 대학연구소와 기업연구소 및 정부출연연구소등에서 국내외에 걸쳐 활발히 연구가 진행되어고있다. 현재 국내에서의 성공적인 산업화된 개발사례로는 한미약품이 노바티스에 수출한 면역억제제인 사이크로-스포린(상품명: 임프란타)제제 개발이 있다. 또 다른 성공사례로 케토톱 (태평양제약) 개발을 들 수 있겠다. 상용화된 성공사례에 발맞추어, 현재 국내 여러 대학의 화학과, 화공과, 약학과, 의학과 등을 중심으로 약물전달시스템에 대한 연구가 활발하게 이루어지고 있으며, 각 제약회사의 연구소, 정부출연연구소, 각 기업의 화학관련 연구소에 걸쳐 다양한 연구가 이루어지고 있다. 유전자, 단백질, 유기 화합물 등 다양한 종류의 약물에 대한 연구가 활발히 이루어지고 있을 뿐만 아니라, 경구투여, 경피투여, 경비투여, 주사제 투여 등의 다양한 투여방법과, 뇌, 신장, 간장, 등의 특정 기관을 목표로 한 표적 지향형 약물전달시스템 등을 연구하는 등 다양한 약물전달시스템에 대한 연구가 이루어지고 있다. 외국에서는 거의 모든 주요 대학마다 이에 대한 연구팀이 이루어지고 있으며, 중심으로 이끌어가는 기업으로는 Alza Corp., Elan Corporation. Plc., Dura Pharmaceuticals Inc., Andrx Corp., Vivus Inc., 등의 수많은 연구소에서 중점적인 연구가 이루어지고 있다.

> 약물전달시스템은 다양한 약물 전달체(drug carrier)와 복합체 구성방법(formulation)등이 요구된다. 이를 위한 약물전달체로는 중점적으로 다양한 종류의 고분자가 합성되어 연구되고 있다. 대표적인 합성 고분자 물질로는 생분해성 고분자 물질이 있으며, 생체내에서 독성이 적은 PLA(poly lactide), PLGA(poly(lactide-co-glycolide)), PEG(poly ethyleneglycol), 폴리(알킬시아노아크릴레이트) 등이 약물전달시스템에서 최근 활발히 연구되고 있는 고분자들이다.

약물전달시스템의 개발에서 중요한 고려사항은

- <6> 첫째, 부작용이 적어야 하고,
- <7> 둘째, 약물과 약물전달시스템이 안정적인 결합체(formulation)를 형성하여 약물의 유실이나 변성이 일어나지 않고 안정적으로 전달될 수 있어야 하며,
- <8> 셋째, 목적기관이나 세포내로 안정적으로 전달되어야 한다.
- <9> 이러한 조건을 만족하는 다양한 종류의 약물전달시스템이 지속적으로 개발되어야 한다.
- 현재까지 열 가소성, 생체 적합성, 생체 분해성, 생산성, 가공의 편리성 등이 모두 우수한 물질은 많이 개발되지 않았으며, 이에 대한 다양한 약물 전달체의 개발은 절실하다. 신약개발의 핵심 기술인 약물전달시스템의 개발에 있어 국내에서 활발히 참여가 이루어지기 위해서는 세계적인 연구가 이루어지는 다양한 약물 전달체의 개발에 발맞추어 유망한 새로운 약물 전달체의 개발이 절실한 상황이다. 새로운 약물전달체 후보화합물의 발굴을 통한 약물전달시스템의 개발은 21세기에서 더욱 부각되는 바이오산업을 선도하는 핵심기술중 하나인 약물전달시스템의 개발에 있어, 선도적인 역할을 이끌어 낼 수 있다.
- > 쿠커비투릴은 1905년 베렌드(R. Behrend), 마이어(E. Meyer), 러쉐(F. Rusche)에 의하여 최초로 보고된 물질로서, 이들의 논문(Liebigs Ann. Chem. 1905, 339, 1)에 따르면 글리코루릴(glycoluril)과 과량의 포름알데히드를 염산(HCl) 존재 하에서 축합시켜 무정형의 침전을 얻은 다음, 이를 뜨거운 진한 황산으로 녹이고 물로 희석하면 결정 상태로 얻을 수 있다고 한다. 그러나, 이 문헌에서는 이 화합물이 $C_{10}H_{11}N_7O_4 \cdot 2H_2O$ 의 화학식을 갖는 물질이라고 잘못 추정하였으며 구조는 밝혀지 못했다.
- > 1981년 목(W. Mock)과 공동 연구자들은 이 물질이 여섯 개의 단량체가 모여 고리를 이룬 거대한 고리 화합물로 $C_{36}H_{36}N_{24}O_{12}$ 의 화학식을 갖는다는 사실을 밝혀냈으며, X-선 회절법에

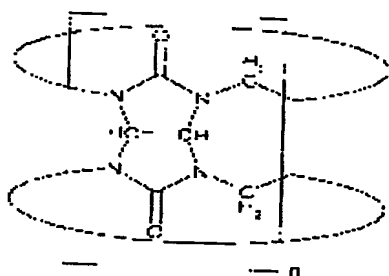
의해 그 구조를 확인하였다(J. Am. Chem. Soc. 1981, 103, 7367). 그들은 이 화합물을 쿠커비투[6]릴이라고 명명하였다. 그 후 쿠커비투[6]릴의 개선된 합성 방법이 공개되었다(DE 196 03 377 A1).

12> 이후 2000년에 들어서면서 김기문과 공동 연구자들은 기존의 쿠커비투[6]릴의 합성방법을 개선하여 쿠커비투[6]릴 뿐만 아니라 동족체인 쿠커비투[n]릴 ($n = 5, 7, 8$)들을 합성, 분리하고 각각의 구조를 X-선 회절법으로 확인하였다(J. Am. Chem. Soc. 2000, 122, 540).

13> 한편, 국제출원 특허공개공보 00/68232에는 하기 참고도 1과 같은 화학식의 쿠커비투릴 [n]을 개시하고 있다,

^[4] [참고도 1]

.5>



▷ 상기 화학식에서, n은 4 내지 12의 정수이다.

> 이상의 쿠커비투릴 유도체들은 치환기가 없는 글리코루릴 단량체들이 모여 이루어진 화합물이다.

한편, 치환기가 도입된 글리코루릴을 이용하여 합성된 쿠커비투릴 유도체가 개시되었다 (Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 1992, 31, 1475). 이 논문에 의하면, 디메틸글리코루릴과 포름알데히드와의 축합반응을 통하여 다섯 개의 디메타노디메틸글리코루릴이 고리를 이룬 데카메틸 쿠커비투[5]릴(decamethylcucurbit[5]uril)을 합성하였다.

<19> 쿠커비투릴은 거대고리분자 화합물로서 친유성의 동공을 가지고, 친수성의 입구를 양쪽에 가지고 있다. 그러므로, 쿠커비투릴은 동공 내에서는 친유성 상호작용이 이루어지며, 6개의 카르보닐기가 위치한 상하의 두 입구에서는 각각 수소결합, 극성상호작용, 양이온-극성 상호작용 등이 이루어져, 다양한 종류의 화합물들과 대단히 안정적인 비공유결합을 통한 봉입효과를 나타낸다(표 1).

20> [표 1]

21> 쿠커비투릴과 화합물들과의 비공유결합상수

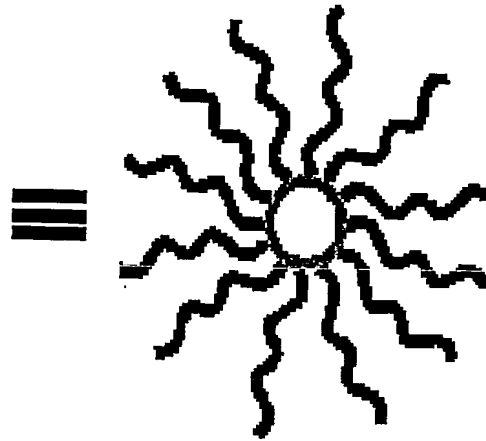
손입 분자	K_f	손입분자	K_f
$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COOH}$	$5.9 \times 10^2 \text{ M}^{-1}$	Phe	$1.4 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$
$\text{NH}_2(\text{CH}_2)_6\text{NH}_2$	$2.7 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$	L-Ala	$1.0 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$
$\text{Me}(\text{CH}_2)_4\text{NH}_2$	$2.4 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$	L-Val	$1.4 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$
$\text{H}_2\text{N}(\text{CH}_2)_5\text{OH}$	$6.9 \times 10^2 \text{ M}^{-1}$	Phe-gly	$1.1 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$
$\text{H}_2\text{N}(\text{CH}_2)_2\text{COOH}$	$2.3 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$	Leu-gly	$3.7 \times 10^2 \text{ M}^{-1}$
$\text{H}_2\text{N}(\text{CH}_2)_2\text{CN}$	$4.4 \times 10^2 \text{ M}^{-1}$	Gly-val	$1.5 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$

3> 상기 표 1에서 알 수 있듯이, 특히 아미노기, 카르복실산 등의 작용기를 가진 화합물에 대해서 매우 안정적인 비공유결합을 통한 복합체를 형성하며, 이러한 특성을 이용하여 다양한 분야에 대한 연구를 지속적으로 수행해 오고 있다.

> 본 발명자들은 최근 FDA에서 인증받은 항암제인 옥살리플라틴(Oxaliplatin) 과 쿠커비투릴이 안정한 비공유결합을 통한 복합체를 형성하여 쿠커비투릴이 약물전달시스템으로 사용된 예를 발표하였다(PCT/KR02/01755). 또한, 본 발명자들은 쿠커비투릴을 응용한 유사 로텍산(pseudo-rotaxane)을 통해 DNA의 결합능력이 향상됨을 보인 바 있으며, 쿠커비투릴을 이용한 덴드리머가 유전자전달시스템에 이용될 수 있는 방안에 대하여 연구, 발표한 바 있다 (KR01-7169, Angew. Chem. Int. Ed., 2000 and 2001).

- <25> 또한 본 연구팀의 진행중인 연구 결과에 의하면, 금표면위에 자기조립단분자층 (self-assembled monolayer)을 형성한 쿠커비투릴이 리소짐, 글루코오스 옥시다제(GOD) 등의 단백질과 재현되는 안정적인 비공유결합 능력을 갖는다는 사실을 관찰한 바 있다.
- <26> 따라서, 쿠커비투릴과 비공유결합을 통한 복합체를 형성할 수 있는 제약의 종류는 아민기, 암모늄기, 카르복실산기 등을 지니고 있는 단분자의 약제외에 단백질과 폴리펩티드 등의 약물도 쿠커비투릴을 이용한 약물전달시스템의 효용성을 나타내리라 기대하고 있다. 그러나 쿠커비투릴은 다양한 치환기를 도입할 수 있는 활성 작용기를 지니고 있지 않으며, 낮은 용해도로 인해 그 용도가 매우 제한적이었다. 따라서, 기존에 약물전달체로 주목받는 사이클로덱스트린에 비해 보완적이며, 매우 뛰어난 봉입 효과에도 불구하고 약물전달 시스템으로 구체적인 연구가 이루어지지 못하고 있었다.
- <27> 최근 본 연구팀은 상기와 같은 약물전달체로서의 쿠커비투릴의 한계를 극복하고자 지속적인 연구를 한 끝에 제한적 용도의 쿠커비투릴에 활성 치환기를 도입한 열두 개의 알콜기를 갖는 히드록시쿠커비투릴과 두 개의 아미노페닐기를 갖는 디아미노페닐 쿠커비투릴을 개발하였다(참고도 1; 한국출원 2003-0008453, PCT/KR02/02213)

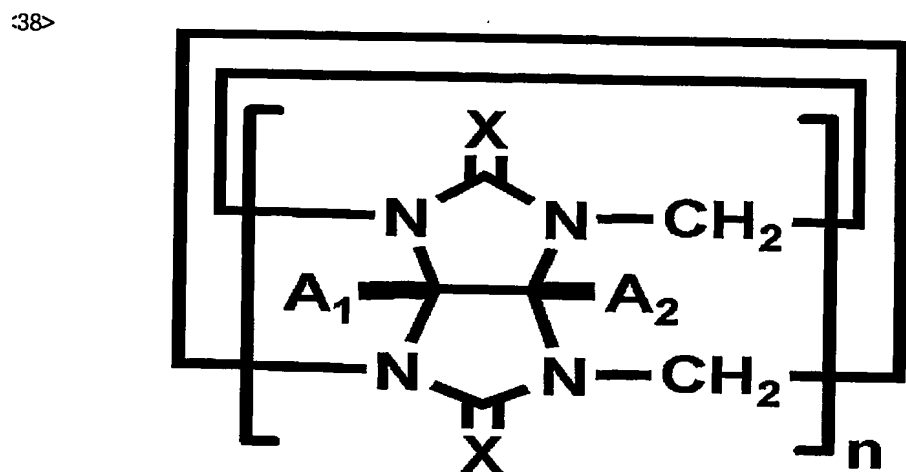
8> [참고도 2]

$$\left[\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{N} \quad \text{N} - \text{CH}_2 \\ \diagup \quad \diagdown \\ \text{RO} \quad \text{OR} \\ \diagdown \quad \diagup \\ \text{N} \quad \text{N} - \text{CH}_2 \\ \parallel \\ \text{O} \end{array} \right]_6$$


【발명의 구성 및 작용】

<36> 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 하기 화학식 1의 쿠커비투릴 유도체가 응집되어 형성된 직경 1 내지 1000nm 크기의 나노 입자를 제공한다:

<37> [화학식 1]



<39> 상기 화학식 1에서,

<40> X는 O, S 또는 NH이고;

<41> A₁ 및 A₂는 각각 OR¹, OR², 또는 SR¹, SR², 또는 NHR¹, NHR²이며,

<42> 상기 R¹ 및 R²는 각각 독립적으로 수소, 치환 또는 비치환된 C₁-C₃₀ 알킬, 치환 또는 비치환된 C₁-C₃₀ 알케닐, 치환 또는 비치환된 C₁-C₃₀ 알키닐, 치환 또는 비치환된 C₂-C₃₀ 카르보닐알킬, 치환 또는 비치환된 C₁-C₃₀ 티오알킬, 치환 또는 비치환된 C₁-C₃₀ 알킬티올, 치환 또는 비치환된 C₁-C₃₀ 알콕시, 치환 또는 비치환된 C₁-C₃₀ 히드록시알킬, 치환 또는 비치환된 C₁-C₃₀ 알킬실릴, 치환 또는 비치환된 C₁-C₃₀ 아미노알킬, 치환 또는 비치환된 C₁-C₃₀의 아미노알킬티오알킬, 치환 또는 비치환된 C₅-C₃₀ 시클로알킬, 치환 또는 비치환된 C₂-C₃₀ 헤테로시클로알킬, 치환 또는 비치환된 C₆-C₃₀ 아릴, 치환 또는 비치환된 C₆-C₂₀ 아릴알킬, 치환 또는

비치환된 C_4-C_{30} 헤테로아릴, 및 치환 또는 비치환된 C_4-C_{20} 의 헤테로아릴알킬로 구성된 군에서 선택되며;

<43> n은 4 내지 20의 정수이다.

<44> 본 발명의 또 다른 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 또한, 상기 쿠커비투릴 유도체의 응집에 의해 형성된 나노 입자에 손님분자(guest molecule)로서 약리활성물질이 담지된 약제학적 조성물을 제공한다.

<45> 본 발명의 또 다른 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 또한

<46> 상기 화학식 1의 쿠커비투릴 유도체를 유기용매에 녹여 용액을 제조하는 단계;

<47> 상기 용액에 물을 가하고 분산시키는 단계;

<48> 상기 분산된 용액의 온도를 상기 유기용매의 끓는점 이상 100°C 미만의 온도로 올려 증류시킴으로써 유기용매를 제거하는 단계; 및

<49> 유기 용매가 제거된 상기 용액을 실온으로 냉각시키는 단계를 포함하는, 쿠커비투릴 유도체가 응집되어 형성된 나노 입자의 제조방법을 제공한다.

<50> 또한, 본 발명은

<51> 상기 화학식 1의 쿠커비투릴 유도체과 약리활성물질을 유기용매에 녹여 용액을 제조하는 단계;

<52> 상기 용액에 물을 가하고 분산시키는 단계;

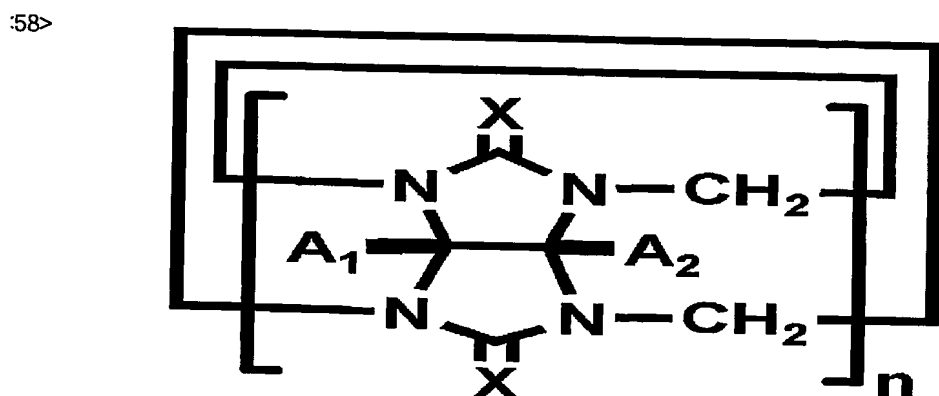
<53> 상기 분산된 용액의 온도를 상기 유기용매의 끓는점 이상 100°C 이하의 온도로 올려 증류시킴으로써 유기용매를 제거하는 단계; 및

<54> 유기 용매가 제거된 상기 용액을 실온으로 냉각시키는 단계를 포함하는, 상기 나노입자에 손님분자로서 약리활성물질이 담지된 약제학적 조성물의 제조방법을 제공한다.

<55> 이하, 본 발명을 보다 상세히 설명한다.

<56> 본 발명에서 제공하는 나노 입자는 쿠커비투릴 유도체가 응집되어 형성된 증공이 있는 나노 입자로서, 직경 1 내지 1000nm 크기를 갖는다. 상기 나노 입자를 구성하는 쿠커비투릴 유도체는 하기 화학식 1의 구조를 갖는 화합물이다.

<57> [화학식 1]



<59> 상기 화학식 1에서,

<60> X는 O, S 또는 NH이고;

<61> A₁ 및 A₂는 각각 OR¹, OR², 또는 SR¹, SR², 또는 NHR¹, NHR²이며,

<62> 상기 R¹ 및 R²는 각각 독립적으로 수소, 치환 또는 비치환된 C₁-C₃₀ 알킬, 치환 또는 비치환된 C₁-C₃₀ 알케닐, 치환 또는 비치환된 C₁-C₃₀ 알키닐, 치환 또는 비치환 C₂-C₃₀ 카르보닐알킬, 치환 또는 비치환된 C₁-C₃₀ 티오알킬, 치환 또는 비치환된 C₁-C₃₀ 알킬티올, 치환 또는 비치환된 C₁-C₃₀ 알콕시, 치환 또는 비치환된 C₁-C₃₀ 히드록시알킬, 치환 또는 비치환된 C₁-C₃₀ 알킬실릴, 치환 또는 비치환된 C₁-C₃₀ 아미노알킬, 치환 또는 비치환된 C₁-C₃₀의 아미

노알킬티오알킬, 치환 또는 비치환된 C_5-C_{30} 시클로알킬, 치환 또는 비치환된 C_2-C_{30} 헤테로시클로알킬, 치환 또는 비치환된 C_6-C_{30} 아릴, 치환 또는 비치환된 C_6-C_{20} 아릴알킬, 치환 또는 비치환된 C_4-C_{30} 헤테로아릴, 및 치환 또는 비치환된 C_4-C_{20} 의 헤테로아릴알킬로 구성된 군에서 선택되며;

<63> n은 4 내지 20의 정수이다.

<64> 상기 나노 입자는 상기 쿠커비투릴 이외에 생분해성 고분자가 더 포함되어 응집됨으로써 형성될 수 있다. 상기 나노입자는 생분해성 고분자가 더 포함됨으로써 적은 양의 히드록시쿠커비투릴 유도체로도 같은 효과를 볼 수 있을 뿐 아니라 신체 내에서의 잠재적인 부작용을 감소할 수 있다. 상기 생분해성 고분자로는 PLGA (poly(lactide-co-glycolide)), PEG (polyethyleneglycol), 폴리(알킬시아노아크릴레이트), 폴리-e-카프롤락톤, 셀룰로오스 유도체, 알부민, 젤라틴, 알긴산염, 또는 이들의 조합이 사용될 수 있으나, 이에 한정된 것은 아니다.

<65> 한편, 상기 쿠커비투릴 유도체가 응집되어 형성된 나노 입자는 약물의 담체로서 작용할 수 있다. 약리활성물질이 상기 나노입자의 공동에 손님분자(guest molecule)로서 담지될 수 될 수 있다.

<66> 상기 약리활성물질로는 유기 화합물, 단백질, 또는 유전자 등을 사용할 수 있다.

<67> 상기 유기화합물로는 하이드로코르티손, 프레드니솔론, 스피로노락톤, 테스토스테론, 메제스테롤 아세테이트, 다나졸, 프로게스테론, 인도메타신, 암포테리신 B, 또는 이들의 조합을 사용할 수 있으나, 이에 한정된 것은 아니다.

<68> 상기 단백질로는 인간성장호르몬, G-CSF(granulocyte colony-stimulating factor), GM-CSF(granulocyte-macrophage colony-stimulating factor), 에리스로포이에틴(erythropoietin), 백신, 항체, 인슐린, 글루카곤, 칼시토닌(calcitonin), ACTH(adrenocorticotrophic hormone), 소마토스태틴(somatostatin), 소마토포핀(somatotropin), 소마토메딘(somatomedin), 부갑상선 호르몬, 갑상선 호르몬, 시상하부 분비물질, 프로락틴(prolactin), 엔돌핀, VEGF(vascular endothelial growth factor), 엔케팔린(enkephalin), 바소프레신(vasopressin), 신경성장촉진인자(nerve growth factor), 비자연발생적 아편양 물질(non-naturally occurring opioid), 인터페론, 아스파라기나아제(asparaginase), 알기나제(alginase), 슈퍼옥사이드 디스뮤타제(superoxide dismutase), 트립신(trypsin), 키모트립신(chymotrypsin), 펩신, 또는 이들의 조합을 사용할 수 있으나, 이에 한정된 것은 아니다.

69> 상기 나노 입자를 제조하는 방법은,

70> 상기 화학식 1의 쿠커비투릴 유도체를 유기용매에 녹여 용액을 제조하는 단계;

71> 상기 용액에 물을 가하고 분산시키는 단계;

72> 상기 분산된 용액의 온도를 상기 유기용매의 끓는점 이상 100℃ 미만의 온도로 올려 증류시킴으로써 유기용매를 제거하는 단계; 및

73> 유기 용매가 제거된 상기 용액을 실온으로 냉각시키는 단계를 포함한다.

74> 또한, 상기 나노입자에 손님분자로서 약리활성물질이 담지된 약제학적 조성물을 제조하는 방법은

- <75> 상기 화학식 1의 쿠커비투릴 유도체과 약리활성물질을 유기용매에 녹여 용액을 제조하는 단계;
- <76> 상기 용액에 물을 가하고 분산시키는 단계;
- <77> 상기 분산된 용액의 온도를 상기 유기용매의 끓는점 이상 100℃ 이하의 온도로 올려 증류시킴으로써 유기용매를 제거하는 단계; 및
- <78> 유기 용매가 제거된 상기 용액을 실온으로 냉각시키는 단계를 포함한다.
- <79> 상기 나노입자의 제조방법 및 약제학적 조성물의 제조방법에 있어서, 생분해성 고분자를 쿠커비투릴과 함께 유기용매에 녹여 용액을 제조함으로써 생분해성 고분자를 더 포함하는 나노 입자 또는 약제학적 조성물을 제조할 수 있다. 상기 생분해성 고분자로는 PLGA (poly(lactide-co-glycolide)), PEG (polyethyleneglycol), 폴리(알킬시아노아크릴레이트), 폴리-ε-카프롤락톤, 셀룰로오스 유도체, 알부민, 젤라틴, 알긴산염, 또는 이들의 조합이 사용될 수 있으나, 이에 한정된 것은 아니다.
- 80> 또한, 상기 유기용매로는 쿠커비투릴을 용해할 수 있는 용매를 사용할 수 있으며, 이러한 용매로는 클로로포름, 디메틸설폭시드, 디클로로메탄, 디메틸포름아미드, 테트라하이드로퓨란 또는 이들의 조합이 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- 31> 쿠커비투릴 유도체가 용해된 용액에 물을 가하고 분산시키는 단계에서, 물은 용액에 비하여 과량을 가해야 하며 용액 부피의 약 10배 이상의 물을 가하는 것이 바람직하다. 물을 가한 다음에는 물에 유기용액이 균질하게 분산되도록 하여야 하며, 바람직하게는 소니케이터를 사용하여 초음파로 균질하게 분산시킨다.

<82> 쿠커비투릴 유도체가 용해된 용액에 물을 가하고 분산시킨 뒤 유기 용매를 제거하기 위해 유기용매의 끓는점 이상으로 온도를 높임으로써 유기용매를 증류시킨다. 유기 용매를 제거한 후 실온으로 낮추면 에멀전이 생성되며 광학현미경, 주사전자현미경, 또는 투과전자현미경 등으로 관찰하면 1 내지 1000nm 직경의 나노 입자를 관찰할 수 있다.

<83> 이하, 본 발명을 실시예를 들어 보다 상세히 설명한다. 이들 실시예는 본 발명을 설명하기 위한 것일 뿐 본 발명의 범위를 한정하는 것으로 해석되어져서는 안된다.

<84> <실시예>

<85> 실시예 1

<86> 나노입자의 제조 (1)

<87> 1 mg의 (옥탄티오프로필옥시)12쿠커비투릴을 0.1 mL의 테트라하이드로퓨란(THF)에 완전히 녹인 후 10 mL의 증류수를 가하여 소니케이터로 10 분 동안 초음파로 분산시켰다. 그 후 소니케이터 용기의 온도를 60도씨로 올려 처음에 첨가하였던 THF를 완전히 제거하였다. 완전히 테트라하이드로퓨란(THF)를 제거한 후 실온으로 온도를 낮춰 에멀전을 생성시켰다. 이를 주사전자현미경으로 관찰한 결과 10에서 200 나노미터 크기의 구형입자를 관찰할 수 있었다.

<88> 상기 주사전자현미경으로 관찰한 결과를 촬영한 사진을 도 1에 나타내었다.

<89> 실시예 2

<90> 나노입자의 제조 (2)

<91> 1 mg의 (옥탄티오프로필옥시)12쿠커비투릴과 10 mg 의 PLA를 0.1 mL의 테트라하이드로퓨란(THF)에 완전히 녹인 후 10 mL의 증류수를 가하여 소니케이터로 30 분 동안 초음파로 분산시켰다. 그 후 소니케이터 용기의 온도를 60 도씨로 올려 처음에 첨가하였던 THF를 완전히 제거

하였다. 테트라하이드로퓨란 (THF)을 완전히 제거한 후 실온으로 온도를 낮추어 에멀전을 생성시켰다.

<92> 실시예 3

<93> 알부민이 담지된 나노입자

<94> 1 mg의 (옥탄티오프로필옥시)12쿠커비투릴과 5 mg 의 PLA, 및 5 mg의 알부민을 0.1 mL의 테트라하이드로퓨란(THF)에 완전히 녹인 후 10 mL의 증류수를 가하여 소니케이터로 30 분 동안 초음파로 분산시켰다. 그 후 소니케이터 용기의 온도를 약 60 도씨로 올려 처음에 첨가하였던 THF를 완전히 제거하였다. 테트라하이드로퓨란 (THF)을 완전히 제거한 후 실온으로 온도를 낮추어 에멀전을 생성시켰다. 이를 원심분리기로 분리하여(3500 rpm) 건조하였다.

95> 실시예 4

96> 하이드로코르티손이 담지된 나노입자

37> 1 mg의 (옥탄티오프로필옥시)12쿠커비투릴과 10 mg 의 PLA, 및 1 mg의 하이드로코르티손을 0.1 mL의 테트라하이드로퓨란(THF)에 완전히 녹인 후 10 mL의 증류수를 가하여 소니케이터로 30분 동안 초음파로 분산시켰다. 그 후 소니케이터 용기의 온도를 약 60 도씨로 올려 처음에 첨가하였던 THF를 완전히 제거하였다. 테트라하이드로퓨란 (THF)을 완전히 제거한 후 실온으로 온도를 낮추어 에멀전을 생성시켰다. 이를 원심분리기로 분리하여(3500 rpm) 건조하였다.

8> 실시예 5

9> 인슐린이 담지된 나노입자

100> 1 mg의 (옥탄티오프로필옥시)12쿠커비투릴과 10 mg 의 PLA, 및 1 mg의 인슐린을 0.1 mL 의 테트라하이드로퓨란(THF)에 완전히 녹인 후 10 mL의 증류수를 가하여 소니케이터로 60 분 동안 초음파로 분산시켰다. 그 후 소니케이터 용기의 온도를 60 도씨로 올려 처음에 첨가하였던 THF를 완전히 제거하였다. 테트라하이드로퓨란 (THF)을 완전히 제거한 후 실온으로 온도를 낮추어 에멀전을 생성시켰다. 이를 원심분리기로 분리하여(4000 rpm) 건조하였다.

101> 실시예 6

102> 칼시토닌이 담지된 나노입자

103> 1 mg의 (옥탄티오프로필옥시)12쿠커비투릴과 10 mg 의 PLA, 및 2 mg의 칼시토닌을 0.1 mL의 테트라하이드로퓨란(THF)에 완전히 녹인 후 10 mL의 증류수를 가하여 소니케이터로 30 분 동안 초음파로 분산시켰다. 그 후 소니케이터 용기의 온도를 60 도씨로 올려 처음에 첨가하였던 THF를 완전히 제거하였다. 테트라하이드로퓨란 (THF)을 완전히 제거한 후 실온으로 온도를 낮추어 에멀전을 생성시켰다. 이를 원심분리기로 분리하여(3500 rpm) 건조하였다.

【발명의 효과】

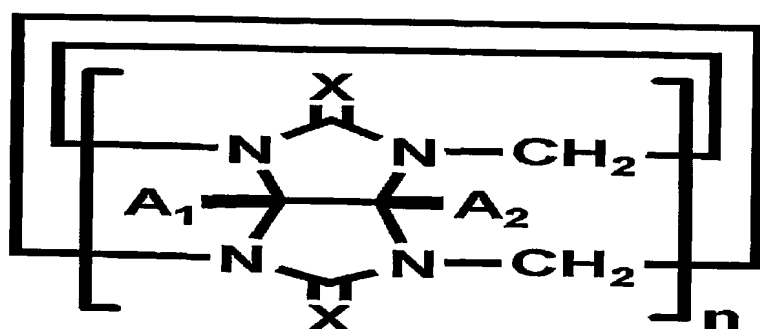
04> 상기한 바와 같이, 본 발명에 따르면 쿠커비투릴이 응집되어 형성된 나노입자, 상기 나노 입자에 약물이 담지된 약제학적 조성물, 및 그들의 제조방법을 제공할 수 있다.

【특허청구범위】

【청구항 1】

하기 화학식 1의 쿠커비투릴 유도체가 응집되어 형성된 직경 1 내지 1000nm 크기의 나노 입자:

[화학식 1]



상기 화학식 1에서,

X는 O, S 또는 NH이고;

A₁ 및 A₂는 각각 OR¹, OR², 또는 SR¹, SR², 또는 NHR¹, NHR²이며,

상기 R¹ 및 R²는 각각 독립적으로 수소, 치환 또는 비치환된 C₁-C₃₀ 알킬, 치환 또는 비치환된 C₁-C₃₀ 알케닐, 치환 또는 비치환된 C₁-C₃₀ 알키닐, 치환 또는 비치환된 C₂-C₃₀ 카르보닐알킬, 치환 또는 비치환된 C₁-C₃₀ 티오알킬, 치환 또는 비치환된 C₁-C₃₀ 알킬티올, 치환 또는 비치환된 C₁-C₃₀ 알콕시, 치환 또는 비치환된 C₁-C₃₀ 히드록시알킬, 치환 또는 비치환된 C₁-C₃₀ 알킬실릴, 치환 또는 비치환된 C₁-C₃₀ 아미노알킬, 치환 또는 비치환된 C₁-C₃₀의 아미노알킬티오알킬, 치환 또는 비치환된 C₅-C₃₀ 시클로알킬, 치환 또는 비치환된 C₂-C₃₀ 헤테로시클로알킬, 치환 또는 비치환된 C₆-C₃₀ 아릴, 치환 또는 비치환된 C₆-C₂₀ 아릴알킬, 치환 또는

비치환된 C_4-C_{30} 헤테로아릴, 및 치환 또는 비치환된 C_4-C_{20} 의 헤테로아릴알킬로 구성된 군에서 선택되며;

n 은 4 내지 20의 정수이다.

【청구항 2】

제 1 항에 있어서, 생분해성 고분자가 더 포함되어 응집된 것을 특징으로 하는 나노 입자.

【청구항 3】

제 2 항에 있어서, 상기 생분해성 고분자는 PLGA (poly(lactide-co-glycolide)), PEG (polyethyleneglycol), 폴리(알킬시아노아크릴레이트), 폴리-e-카프롤락톤, 셀룰로오스 유도체, 알부민, 젤라틴, 알긴산염, 또는 이들의 조합인 것을 특징으로 하는 나노 입자.

【청구항 4】

제 1 항 내지 제 3 항 중 어느 한 항의 나노 입자에 손님분자로서 약리활성물질이 담지된 약제학적 조성물.

【청구항 5】

제 4 항에 있어서, 상기 약리활성물질은 유기 화합물, 단백질, 또는 유전자인 것을 특징으로 하는 약제학적 조성물.

【청구항 6】

제 5 항에 있어서, 상기 유기화합물은 하이드로코르티손, 프레드니솔론, 스피로노락톤, 테스토스테론, 메제스테롤 아세테이트, 다나졸, 프로게스테론, 인도메타신, 암포테리신 B, 또는 이들의 조합인 것을 특징으로 하는 약제학적 조성물.

【청구항 7】

제 5 항에 있어서, 상기 단백질은 인간성장호르몬, G-CSF(granulocyte colony-stimulating factor), GM-CSF(granulocyte-macrophage colony-stimulating factor), 에리스로포이에틴(erythropoietin), 백신, 항체, 인슐린, 글루카곤, 칼시토닌(calcitonin), ACTH(adrenocorticotrophic hormone), 소마토스테틴(somatostatin), 소마토트로핀(somatotropin), 소마토메딘(somatomedin), 부갑상선 호르몬, 갑상선 호르몬, 시상하부 분비물질, 프로락틴(prolactin), 엔돌핀, VEGF(vascular endothelial growth factor), 엔케팔린(enkephalin), 바소프레신(vasopressin), 신경성장촉진인자(nerve growth factor), 비자연발생적 아편양 물질(non-naturally occurring opioid), 인터페론, 아스파라기나아제(asparaginase), 알기나제(alginase), 슈퍼옥사이드 디스뮤타제(superoxide dismutase), 트립신(trypsin), 키모트립신(chymotrypsin), 펩신, 또는 이들의 조합인 것을 특징으로 하는 약제학적 조성물.

【청구항 8】

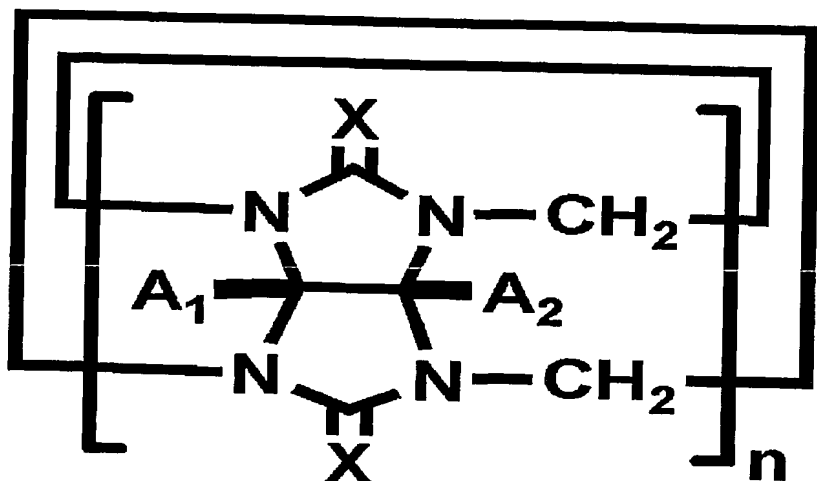
하기 화학식 1의 쿠커비투릴 유도체를 유기용매에 녹여 용액을 제조하는 단계;

상기 용액에 물을 가하고 분산시키는 단계;

상기 분산된 용액의 온도를 상기 유기용매의 끓는점 이상 100℃ 미만의 온도로 올려 증류시킴으로써 유기용매를 제거하는 단계; 및

유기 용매가 제거된 상기 용액을 실온으로 냉각시키는 단계를 포함하는 제 1 항의 나노입자의 제조방법:

[화학식 1]



상기 화학식 1에서,

X 는 O, S 또는 NH이고;

A₁ 및 A₂는 각각 OR¹, OR², 또는 SR¹, SR², 또는 NHR¹, NHR² 이며,

상기 R¹ 및 R²는 각각 독립적으로 수소, 치환 또는 비치환된 C₁-C₃₀ 알킬, 치환 또는 비치환된 C₁-C₃₀ 알케닐, 치환 또는 비치환된 C₁-C₃₀ 알키닐, 치환 또는 비치환된 C₂-C₃₀ 카르보닐알킬, 치환 또는 비치환된 C₁-C₃₀ 티오알킬, 치환 또는 비치환된 C₁-C₃₀ 알킬티올, 치환 또는 비치환된 C₁-C₃₀ 알콕시, 치환 또는 비치환된 C₁-C₃₀ 히드록시알킬, 치환 또는 비치환된 C₁-C₃₀ 알킬실릴, 치환 또는 비치환된 C₁-C₃₀ 아미노알킬, 치환 또는 비치환된 C₁-C₃₀의 아미노알킬티오알킬, 치환 또는 비치환된 C₅-C₃₀ 시클로알킬, 치환 또는 비치환된 C₂-C₃₀ 헤테로시클로알킬, 치환 또는 비치환된 C₆-C₃₀ 아릴, 치환 또는 비치환된 C₆-C₂₀ 아릴알킬, 치환 또는 비치환된 C₄-C₃₀ 헤테로아릴, 및 치환 또는 비치환된 C₄-C₂₀의 헤테로아릴알킬로 구성된 군에서 선택되며;

n은 4 내지 20의 정수이다.

【청구항 9】

화학식 1의 쿠커비투릴 유도체과 약리활성물질을 유기용매에 녹여 용액을 제조하는 단계 ;

상기 용액에 물을 가하고 분산시키는 단계;

상기 분산된 용액의 온도를 상기 유기용매의 끓는점 이상 100℃ 이하의 온도로 올려 증류시킴으로써 유기용매를 제거하는 단계; 및

유기 용매가 제거된 상기 용액을 실온으로 냉각시키는 단계를 포함하는 제 4 항의 약제학적 조성물의 제조방법.

【청구항 10】

제 8 항 또는 제 9 항에 있어서, 상기 쿠커비투릴을 유기용매에 녹여 용액을 제조하는 단계에서 생분해성 고분자를 추가로 부가하여 용액을 제조하는 것을 특징으로 하는 제조방법.

【청구항 11】

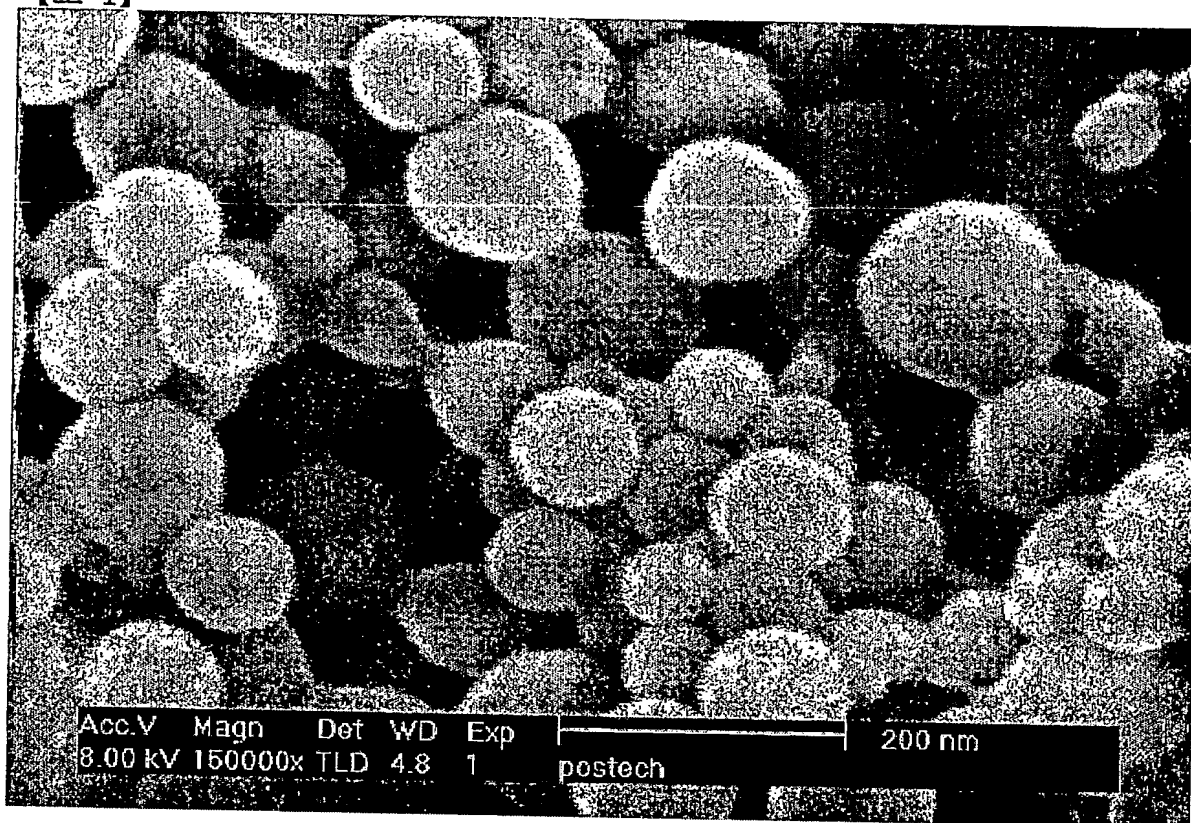
제 8 항 또는 제 9 항에 있어서, 상기 유기용매는 클로로포름, 디메틸설폭시드, 디클로로메탄, 디메틸포름아미드, 테트라하이드로퓨란, 또는 이들의 조합인 것을 특징으로 하는 제조방법.

【청구항 12】

제 8 항 또는 제 9 항에 있어서, 상기 분산시키는 단계는 소니케이터를 사용하여 초음파로 분산시키는 것을 특징으로 하는 제조방법.

【도면】

【도 1】



BEST AVAILABLE COPY